



TITLE:

Functional evaluation of the pathological significance of MEFV variants using induced pluripotent stem cell-derived macrophages(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Shiba, Takeshi

CITATION:

Shiba, Takeshi. Functional evaluation of the pathological significance of MEFV variants using induced pluripotent stem cell-derived macrophages. 京都大学, 2020, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2020-03-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.k22327>

RIGHT:

許諾条件により本文は2020-09-18に公開

京都大学	博士（ 医学 ）	氏名	芝 剛
論文題目	Functional evaluation of the pathological significance of <i>MEFV</i> variants using induced pluripotent stem cell-derived macrophages (iPS 細胞由来マクロファージを用いた <i>MEFV</i> バリエントの病的意義の機能的評価)		
(論文内容の要旨)			
<p>【背景】自然免疫系の過剰な活性化を主要病態とする自己炎症性疾患の中で、家族性地中海熱（FMF）は最も頻度の高い疾患であり、胸膜や腹膜などの漿膜炎を伴う周期性発熱を特徴とする。疾患関連遺伝子として <i>MEFV</i> 遺伝子が同定されており遺伝子検査が診断の一助となるが、<i>MEFV</i> 遺伝子には 340 種類以上のバリエントが報告されており、その多くは疾患関連性が不明である。<i>MEFV</i> 遺伝子がコードするパイリントキンの活性化、およびそれに続くパイリンインフラマソームの形成と IL-1 β 分泌に対して各バリエントが与える影響の評価系は確立しておらず、臨床現場において遺伝子検査結果の解釈に混乱が生じている。IL-1 β 阻害薬の有効性より患者に於ける IL-1 β 分泌の亢進が想定され、微小管重合阻害薬であるコルヒチンの有効性よりその分泌がコルヒチンにより抑制されることも予想されるが、患者においてそのような病態の中心となる細胞も不明である。</p> <p>【目的】FMF 患者における炎症病態の中心となる IL-1 β 過剰分泌細胞を同定すると共に、<i>MEFV</i> 遺伝子バリエントを導入した iPS 細胞を同定細胞へ分化させ、IL-1 β 分泌機能を比較することによって各 <i>MEFV</i> 遺伝子バリエントの疾患関連性評価を可能とする系を確立すること。</p> <p>【方法】パイリン活性化物質である Clostridium Toxin A (TcdA) を用い、健常人及び FMF 患者由来の末梢血由来単球と、単球より分化誘導したマクロファージを刺激して、その IL-1 β 分泌を解析した。又、FMF 患者由来 iPS 細胞をマクロファージに分化させ、同様の刺激でパイリンの活性化と IL-1 β 分泌を解析した。更に、健常人由来 iPS 細胞に様々な <i>MEFV</i> バリエントを導入した上でマクロファージに分化させ、同様の解析を行った。</p> <p>【結果】FMF 患者由来単球による IL-1 β 分泌は健常者単球と同等であり、コルヒチンは健常人単球の IL-1 β 分泌を抑制したものの、FMF 患者単球の IL-1 β 分泌を抑制しなかった。一方、FMF 患者由来マクロファージによる IL-1 β 分泌は、健常人由来マクロファージと比較して有意に高く、その分泌はコルヒチンにより抑制され、マクロファージが患者臨床像と合致する表現型を示した。又、同様の表現型は FMF 患者より樹立された iPS 細胞由来マクロファージにおいても再現された。加えて、臨床的 FMF 典型例に認められた稀な <i>MEFV</i> バリエント（N679H）を強制発現させた iPS 細胞由来マクロファージは、既に病原性の確立している M694I 変異を強制発現させた iPS 細胞由来マクロファージと同じ表現型を示した。一方、非典型的な臨床像を呈した症例に認められたバリエント（T577N）は、健常人コントロールと同じ表現型を呈した。</p> <p>【結論】典型的 FMF 患者由来のマクロファージでは健常人由来マクロファージに比較してパイリンインフラマソームの活性化が亢進しており、その活性化はコルヒチンにより抑制された。同様の現象は iPS 細胞由来マクロファージでも再現され、マクロファ-</p>			

ジの表現型が FMF の典型的な臨床像と合致した。本研究により確立されたパイリンインフラマソームの活性化評価系により、特定の *MEFV* バリエントと典型的な FMF 病態との関連性評価が可能となる事が期待される。

(論文審査の結果の要旨)

家族性地中海熱（FMF）は、胸膜や腹膜などの漿膜炎を伴う周期性発熱発作とコルヒチンの高い有効性を特徴とする遺伝性炎症疾患である。抗 IL-1 β 製剤が有効であることよりその病態に IL-1 β が重要である事は明らかであるが、炎症病態の中心を担う細胞種、及び過剰な IL-1 β 産生の分子機構は解明されていない。疾患関連遺伝子として *MEFV* 遺伝子が同定されているが、疾患関連性の確立したバリエントは僅かであり、遺伝子バリエントの機能評価系が未確立である為、遺伝子検査結果の解釈に混乱が生じていた。

本研究では、クロストリジウムトキシンの刺激に対して FMF 患者由来のマクロファージが IL-1 β を過剰分泌し、その分泌がコルヒチンにより抑制される事より、マクロファージが FMF 病態の中心的役割を果たす可能性を示した。さらに、患者由来マクロファージで示された特徴的表現型が iPS 細胞由来マクロファージに於いて再現されることを確認し、iPS 細胞由来マクロファージを用いて病的意義不明な *MEFV* バリエントの疾患原性を評価する系を確立した。

以上の研究は家族性地中海熱の病態の解明に貢献し、同疾患の診断と治療方針の決定に寄与するところが多い。

したがって、本論文は博士（ 医学 ）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、本学位授与申請者は、令和 2 年 1 月 2 7 日実施の論文内容とそれに関連した試問を受け、合格と認められたものである。

要 旨 公 開 可 能 日： 年 月 日 以 降